

## APLICACIÓN Y USO

Medio de cultivo selectivo para el aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* de acuerdo a los métodos armonizados por farmacopea y la norma ISO 22717.

## EXPLICACIÓN DEL TEST

Es una fórmula modificada por la adición de cetrimide para la inhibición selectiva de microorganismos diferentes a *Pseudomonas aeruginosa*. Estas cepas son identificadas desde las muestras por la producción del pigmento piocianina y la característica del olor frutal. *P. aeruginosa* es la única especie de *Pseudomonas* o Gram negativos conocida que excreta el pigmento. Por lo tanto es un medio de cultivo valioso en la identificación de este microorganismo.

Es ampliamente recomendado para el análisis de cosméticos, productos farmacéuticos, aguas y muestras clínicas así como para evaluar la eficacia de desinfectantes contra este microorganismo.

## PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El agar cetrimide se basa en la resistencia de *P. aeruginosa* a compuestos de amonio cuaternario. Se ha logrado crecimiento a concentración de hasta 1 g/l de cetiltrimetil-bromuro de amonio, pero ha ido muy pobre o baja su recuperación.

A concentraciones inhibitorias menores como de 0.3 – 0.5g/l no se ha visto afectada la viabilidad de especies pirógenas, pero si se ha visto inhibido el crecimiento de otras bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas, otras especies de *Pseudomonas* son también inhibidas a esas concentraciones.

Aunque *P. aeruginosa* prevalece en su recuperación sobre cualquier otra bacteria fastidiosa después de una incubación a 35°C durante 48 horas, se recomienda una incubación inicial a 42°C durante 48 horas seguida de una incubación a 35°C durante 48 horas, usando este método anterior la inhibición de otras bacterias es asegurada.

La producción de piocianina es estimulada por el Cloruro de Magnesio y el Sulfato de Potasio en el medio, Contiene Glicerina como fuente de Carbono y de energía.

## FORMULA en gr por Lt

Gelatina pancreática digerida (Peptona)	20.0 gr
Cloruro de Magnesio	1.4 gr
Sulfato de Potasio	10.0 gr
Cetrimide (cetiltrimetil-bromuro de amonio)	0.3 gr
Agar	13.6 gr
Aditivo: Glicerina	10ml

pH final 7.2 +/-0.2

## PROCEDIMIENTO

Usar procedimientos internos estandarizados en cada laboratorio para obtener colonias aisladas a partir de diferentes

muestras. Incubar los medios de cultivo en posición invertida (el agar arriba) a 35 +/- 2 °C por 18 – 48 horas.

## RESULTADOS ESPERADOS

Las colonias que se observan con pigmento azul-verdoso y fluorescen bajo luz ultravioleta pueden ser identificadas presumiblemente como *Pseudomonas aeruginosa*, sin embargo cepas de *Pseudomonas aeruginosa* pueden no producir piocianina pero fluorescen bajo luz UV. La mayoría de especies *no-Pseudomonas* son inhibidas y algunas especies de *Pseudomonas* pueden también ser inhibidas. Procedimientos como la tinción de Gram., pruebas bioquímicas y pruebas serológicas podrían ser realizadas para confirmar los hallazgos.

## CONSERVACION:

Los medios de cultivo preparados marca MDM científica deben ser almacenados con las siguientes pautas:

- No exponer a la luz directa (artificial o natural), principalmente los medios de cultivo cromogénicos. En caso que se suministren en caja de cartón, mantenerlos almacenados al interior de esta.
- Una vez recibido el producto, almacenar entre 4°C y 12°C hasta su fecha de vencimiento.
- No almacenar cerca del congelador en caso de existir este compartimiento en la nevera de almacenamiento, y así evitar cristalización del medio de cultivo (agar congelado).

## CONTROL DE CALIDAD

Microorganismo	Recuperación	Color de las Colonias
<i>E. coli</i> ATCC 8739	Inhibido	-----
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	Inhibido	-----
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Bueno	Amarillo, azul-verdoso
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	Bueno	verde amarilloso a verde oscuro
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442	Bueno	verde amarilloso a verde



## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- El tipo de Peptona en la base puede afectar la producción del pigmento.

- Ocasionalmente algunos entéricos pueden mostrar un ligero color amarillo en el medio, sin embargo, esta coloración es fácilmente distinguible de la producción de fluorescencia porque en este caso, no fluorescen.
- Algunos No Fermentadores y algunas aerobios productores de esporas pueden mostrar una pigmentación café, soluble en agua sobre el medio. *Serratia* spp. pueden mostrar pigmentación rosada.
- Algunos estudios demuestran que *P. aeruginosa* puede perder su fluorescencia bajo la luz UV si los cultivos son dejados a temperatura ambiente por un periodo corto pero esa fluorescencia reaparece cuando los medios de cultivo son preincubados.

## DISPOSICIÓN FINAL Y PRECAUCIONES EN LA MANIPULACIÓN

La inoculación de un medio de cultivo con bacterias, deliberadamente o accidentalmente, lleva al crecimiento rápido de estos en el medio, y altas concentraciones de cualquier microorganismo son potencialmente peligrosos, y deben ser descartados de manera segura y por métodos aprobados, como la inactivación en hipoclorito de sodio a 5000 p...p. por no menos de 4 horas, descartando luego los agares en sus cajas contenedoras en doble bolsa roja para luego descartarlo como material de riesgo biológico; o por autoclavado, sin remover previamente el agar, colocando todo el contenido en bolsa roja doble y ser luego descartado como material de riesgo biológico. Todos los medios de cultivo deben ser manipulados por personal calificado y que hayan sido entrenados en procedimientos y técnicas microbiológicas.

### PRECAUCION!!

- Examine la fecha de vencimiento y signos de quebraduras de las cajas. Examine los medios preparados antes de uso. Observe cualquier evidencia de contaminación, burbujas en la superficie del agar, mal llenado, cambios de color, hemólisis y signos de deshidratación y pérdida de volumen o hendiduras en la superficie. Después de abierto el Rack de 10 unidades, debe usarse durante la semana siguiente para evitar posible contaminación.

### REFERENCIAS

- ATLAS, R.M. and L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press Inc. Boca Raton, Fla.
- BROWN, V.I. & J.L. LOWBURY (1965) Use of an improved Cetrimide Agar Medium and of culture methods for *Pseudomonas aeruginosa*. J. Clin. Path. 18.752.
- COLIPA (1997) Guidelines on Microbial Quality Management (MQM) Brussels.
- EUROPEAN PHARMACOPOEIA 7.0 (2011) 7th ed. § 2.6.13. Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms. Harmonised Method. EDQM. Council of Europe. Strasbourg.

- FDA (Food and Drug Administrations) (1998) Bacteriological Analytical Manual. 8th ed. Rev. A. AOAC International. Gaithersburg, VA. ISO 22717:2006 Standard. Cosmetics - Detection of *Pseudomonas aeruginosa*.
- LOWBURY, E.J.L. & A.G. COLLINS (1955) The use of a new cetrimide product in a selective medium for *Pseudomonas aeruginosa* J. Clin. Path. 8.47.
- USP 33 - NF 28 (2011) <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms. Harmonised Method. USP Corp. Inc. Rockville, MD. USA.

### \*\*\*INFORMACIÓN TÉCNICA A PARTIR DE BASE DESHIDRATADA\*\*\*